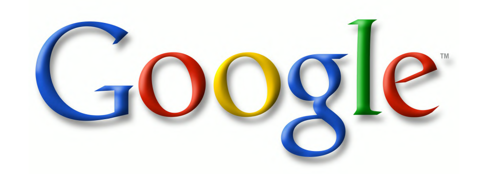


This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at http://books.google.com/

DER

EIWEISSKÖRPER

DES

HÄMOGLOBINS.

HABILITATIONSSCHRIFT

zur

Erlangung der Venia docendi

der

hohen medicinischen Facultät der Grossherzoglichen
und Herzoglichen Gesammtuniversität zu Jena,

vorgelegt von

Dr. med. Friedrich Schulz.

[illegible]TRASSBURG
[illegible] L [illegible] ÜBNER

Digitized by Google

LANE LIBRARY

Digitized by Google

F91
S39
1898

Der Eiweisskörper des Hämoglobins.

Von

Dr. Fr. N. Schulz.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut in Strassburg, N. F. Nr. 5.)

Das Hämoglobin enthält neben Farbstoff einen Eiweisskörper. Während sich über den Farbstoff eine sehr umfangreiche Litteratur angesammelt hat, ist der Eiweisskörper bisher einer genaueren Untersuchung nicht unterzogen worden, wenigstens nicht, seit sich über die Natur und die Unterscheidung der einzelnen Eiweisskörper festere Ansichten gebildet haben. Dies ist um so mehr zu verwundern, als dieser Eiweisskörper von verschiedenen Gesichtspunkten aus ein hervorragendes Interesse beansprucht. Zunächst ist das Hämoglobin derjenige Proteinkörper, welcher bei weitem in der grössten Menge im Blute vorhanden ist. In 100 Theilen Blut sind ca. 13 gr. Hämoglobin gegenüber nur 4,5 gr. Albumin + Globulin + Fibrinogen enthalten, demnach enthält das Gesammtblut eines erwachsenen Menschen ca. 650 gr. Hämoglobin. Sodann liegt es nahe, aus der Zusammensetzung und Beschaffenheit des im rothen Blutfarbstoff enthaltenen Eiweisskörpers einen Rückschluss auf die Abstammung der rothen Blutkörperchen zu ziehen. Wäre nämlich dieser Eiweisskörper identisch mit einem in den Leucocyten in grösseren Mengen vorkommenden, oder liesse er sich von einem solchen ableiten, so wäre damit ein neuer, schlagender Beweis für den genetischen Zusammenhang der Leucocyten und rothen Blutkörperchen erbracht. Endlich ist, da das Hämoglobin ein krystallinisches Material darstellt, zu erwarten, dass der aus demselben abgespaltene Eiweisskörper ebenfalls besonders rein

94423

Digitized by Google

und einheitlich, somit für Studien über Eiweisskörper besonders geeignet ist.

Die einschlägigen, beachtenswerthen Untersuchungen stammen von Lehmann,[1]) von Preyer[2]) und Hoppe-Seyler.[3]) Die auf die Spaltung des Hämoglobins durch Säure bezügliche Stelle bei Lehmann lautet: «In Essigsäure ist der krystallisirbare Stoff leicht löslich; die rothe, wässerige Lösung wird dadurch nur in ihrer Farbe verändert; dieselbe wird nämlich bräunlichgelb. Neutralisirt man die mit Essigsäure angesäuerte Flüssigkeit durch Ammoniak, so scheiden sich blassbräunliche Flocken aus.»

«Umwandlungsprodukte. Leider haben auch diese nicht genauer untersucht werden können; wir erwähnen hier nur, dass auch diese Proteinsubstanz, ganz wie das Albumin, nach Behandlung mit Essigsäure und Alkalisalzen eine dem Panum'schen Acidalbumin ganz analoge Substanz liefert. Die wässerige Lösung dieser Substanz gibt beim Kochen nicht die geringste Trübung, setzt man aber mehr oder weniger Alkalisalz hinzu, so entsteht bei niederer oder höherer Temperatur ein Präcipitat, ganz wie beim Acidalbumin. Viel Salz schlägt die Substanz schon bei gewöhnlicher Temperatur nieder; man kann sie daher durch wiederholtes Lösen in Wasser und Fällen durch Salze wieder völlig säurefrei erhalten. Wird die säurehaltige Lösung mit Kali oder Ammoniak neutralisirt, so entsteht ein starker Niederschlag, der in Ammoniak sich löst, daraus aber schon bei gelindem Erwärmen präcipitirt wird. Salpetersäure und Schwefelsäure bewirken aus der wässerigen Lösung reichliche Niederschläge, Salzsäure aber nicht. Blutlaugensalz gibt ohne besonderen Säurezusatz eine bedeutende

---

1) Lehmann. Lehrbuch der physiol. Chemie, 2. Aufl. 1853. I. S. 364—369.

2) Preyer. 1. Ueber einige Eigenschaften des Hämoglobins und Methämoglobins. Pflüger's Archiv. Bd. I. 1868. S. 414 ff.
2. Die Blutkrystalle. Jena, 1871. S. 166—167.

3) Hoppe-Seyler. Beiträge zur Kenntniss des Blutes des Menschen und der Wirbelthiere. Med.-chem. Untersuchungen. S. 377—378 u. 545.

Digitized by Google

Fällung. Schwefelsaure Talkerde, Alaun, schwefelsaures Kupferoxyd, Eisenchlorid, Zinnchlorür und neutrales, essigsaures Bleioxyd erzeugen selbst beim Kochen keine Fällung, wohl aber basisch essigsaures Bleioxyd, salpetersaures Silberoxyd, Quecksilberchlorid und salpetersaures Quecksilberoxydul.»

Viel eingehender sind die Untersuchungen Preyer's über die Spaltung des Hämoglobins durch die verschiedensten Stoffe. Es würde jedoch zu weit führen, alle Eigenschaften der gefundenen Produkte hier aufzuzählen, zumal da Preyer aus den beobachteten Thatsachen keinen Schluss über die Natur des im Hämoglobin enthaltenen Eiweisskörpers gezogen hat, und seine Beobachtungen nachträglich kaum verwerthet werden können, da er den Eiweisskörper nicht vom Farbstoff getrennt hat. Ich muss mich daher darauf beschränken, dasjenige mitzutheilen, was mit meinen Untersuchungen in direkter Beziehung steht und sich theilweise in denselben wiederfindet. Zunächst beschreibt Preyer die Einwirkung verdünnter Säuren auf das Hämoglobin.[1]) Hiervon ist hervorzuheben: «1. Chlorwasserstoffsäure. Aeusserst geringe Mengen concentrirter Salzsäure bewirken einen Anfangs farblosen, eiweissartigen, beim Schütteln sich wieder lösenden Niederschlag. Zugleich macht die blutrothe Farbe der Lösung einer dunkelbraunrothen Platz. . . . . Hat sich der Anfangs entstandene Niederschlag gelöst, und fügt man mehr Salzsäure hinzu, so entsteht eine reichliche Fällung, die aber schon in der Kälte in überschüssiger Salzsäure (und auch in Essigsäure) löslich ist. Beim Kochen bleibt die Lösung klar. 2. Salpetersäure. Ein Tropfen gewöhnlicher Salpetersäure, zu mehreren Cubikcentimetern concentrirter Hämoglobinlösung gebracht, ruft darin sofort einen starken, weisslichen, eiweissartigen Niederschlag hervor, welcher beim Umschütteln sich klar löst. Zugleich wird die Lösung ausserordentlich dunkelbraunroth gefärbt. . . . . Setzt man zu der klaren Lösung mehr Salpetersäure, so entsteht ein voluminöser, eiweissartiger Niederschlag, welcher sich in einem Ueberschuss von Salpeter-

---

1) W. Preyer. Ueber einige Eigenschaften des Hämoglobins und Methämoglobins. Pflüger's Archiv. Bd. 1. 1868. S. 414 ff.

Digitized by Google

säure beim Kochen (nicht in der Kälte) zu einer bräunlich-grünlichen, beim Verdünnen grünlichen Flüssigkeit langsam klar auflöst. Beim Abkühlen scheiden sich die in der Siedehitze gelöst gewesenen Flocken zum Theil wieder aus.» Die zahlreichen weiteren Versuche mit anderen Säuren bieten weniger Interesse.

Einige einschlägige Beobachtungen von Wichtigkeit rühren von Hoppe-Seyler[1]) her: «Man kann durch Schütteln einer theilweise zerlegten, wässerigen Hämoglobinlösung mit Aether einen grossen Theil der durch die Zerlegung gebildeten Albuminstoffe (vielleicht sogar die ganze Summe derselben) fällen, während Hämoglobin durch Schütteln der wässerigen Lösung mit Aether nicht gefällt wird, aber der Niederschlag ist roth gefärbt durch Hämoglobin, welches fest an den Eiweissstoffen haftet und ohne weitere Veränderung der letzteren nicht abgetrennt werden kann.» Ferner: «Bei der Zersetzung werden gebildet: 1. Eiweissstoffe, welche den Globulinstoffen zugehören,[2]) die aber durch Einwirkung von Säuren in Acidalbumine, durch Einwirkung von Alkalien in Alkalialbuminate umgewandelt werden. Es ist anzunehmen, dass, so wie die Hämoglobine verschiedener Thiere verschiedene Eigenschaften zeigen, auch die bei ihrer Spaltung entstehenden Eiweissstoffe verschieden sind, doch ist dies bis jetzt nicht untersucht.»

Des Weiteren hat Preyer in seiner grossen Monographie über die Blutkrystalle[3]) Untersuchungen über die aus Hämoglobin abspaltbaren Eiweisskörper mitgetheilt. Er schreibt in dem Capitel über die «Zersetzungsprodukte des Blutroths» Folgendes: «Durch Einwirkung von Essigsäure auf Hämoglobin entstehen Acidalbumine, gallertige Körper, die man auch aus anderen Eiweissstoffen leicht erhalten kann. Sie lassen sich von dem anhaftenden farbigen Zersetzungsprodukte völlig befreien, wenn man mit Aethyläther mischt und Wasser zusetzt. Es färbt sich dann die essigsäurehaltige, ätherische Schicht

---

1) l. c. S. 377—378 u. S. 545.

2) Gründe für diese Annahme bringt Hoppe-Seyler nicht bei.

3) l. c.

Digitized by Google

tiefbraun, und die saure, albuminige untere Schicht wird völlig farblos. — Lässt man auf Hämoglobin Alkalien einwirken, so erhält man Alkalialbuminate, die aber bis jetzt vom Farbstoff, der sich gleichzeitig abspaltet, nicht völlig befreit worden sind.» Auf ein anderes Umwandlungsprodukt des aus dem Hämoglobin abgespaltenen Eiweisskörpers beziehen sich nachstehende Bemerkungen: «Ein reines Albumin, aus reinstem Hämoglobin darstellbar, ist das Globin. Es ist der beim Auflösen des an der Luft aufbewahrten und grösstentheils in Methämoglobin übergegangenen Hämoglobins unlöslich zurückbleibende Albuminstoff. In sehr verdünnter Salzsäure löst sich nur eine Spur von diesem Körper.» — «Das Globin ist einer der interessantesten Albumine, weil es von allen bekannten Modificationen wahrscheinlich die einzig reine ist.»

Preyer beschreibt also drei verschiedene Eiweissstoffe, die er aus dem rothen Blutfarbstoff gewinnen konnte, nämlich Acidalbumin, Alkalialbuminat und Globin. Ueber die Beziehung dieser drei Stoffe untereinander und zu dem im Hämoglobin enthaltenen Eiweissstoffe äussert sich Preyer nicht; jedenfalls sind alle drei Stoffe nicht als solche in dem Hämoglobin enthalten, sondern Produkte einer tiefer greifenden Umwandlung.

Vermuthlich auf Grund dieser Ausführungen beschränken sich die neueren Lehrbücher darauf, zu bemerken, dass bei der Zerlegung des Hämoglobins durch Säuren und Alkalien sich Acidalbumin bezw. Alkalialbuminat bilde. In der That ist damit das Ungenügende unserer Kenntnisse über den in Frage stehenden Eiweisskörper genügend gekennzeichnet. Ein Fortschritt war nur von einer erneuten Untersuchung zu erwarten, die zunächst auf eine Darstellung des Körpers mit möglichst indifferenten Mitteln, auf eine genaue Feststellung seiner Eigenschaften und seiner Zusammensetzung gerichtet sein musste.

Der Kürze wegen schlage ich vor, ihn Globin zu nennen, eine Bezeichnung, die, weil sehr nahe liegend, bereits hier und da Eingang gefunden hat, obgleich der Nachweis für die chemische Individualität dieses Körpers noch ausstand. Wie die obenangeführte Stelle lehrt, hat Preyer den Namen Globin für ein unlösliches, aus Methämoglobin entstehendes Eiweiss

Digitized by Google

in Anspruch genommen. Vermuthlich handelte es sich um eine coagulirte Modification des von mir so benannten Körpers. Die Bezeichnung Preyer's hat keinen Eingang gefunden, vielmehr wird der Name jetzt da, wo er gebraucht wird, für den seinen Eigenschaften nach unbekannten, nur in seinen Umwandlungsprodukten, nämlich Preyer'schem Globin (einer coagulirten Modification), Acidalbumin, Alkalialbuminat, bekannten Eiweisskörper gebraucht.[1]) Es ist daher bei der Anwendung der Bezeichnung Globin eine Verwechslung nicht wohl möglich.

I. Darstellung des Globins.

Zur Darstellung wurde zumeist nach der Hoppe-Seyler'schen Methode dargestelltes, dreimal umkrystallisirtes Pferdeoxyhämoglobin verwandt.

Da diese Methode wegen der erforderlichen niederen Temperatur ziemlich unbequem zu handhaben ist, wurde versucht, ob sich die Ammonsulfatmethode, wie sie von Hofmeister für das Eieralbumin und von Gürber für das Serumalbumin mit so gutem Erfolge angewandt worden ist, auch bei Hämoglobinlösungen verwenden lasse. Versuche in dieser Richtung hat bereits P. Dittrich ausgeführt.[2]) Er löste Blutkörperchenbrei mit Aether, setzte zu der Lösung das doppelte Volumen concentrirte Ammonsulfatlösung, filtrirte und liess an der Luft verdunsten. Hierbei kam es zu einer reichlichen Ausscheidung von Krystallen. «Die zuerst vorwiegend aus Oxyhämoglobin bestehende Krystallmasse ging beim Stehen an der Luft, namentlich beim Umkrystallisiren, allmählich vollständig in Methaemoglobin über. Eine weitere Veränderung, z. B. Abspaltung von Hämatin, trat hierbei nicht ein.»

Für die Darstellung von Oxyhämoglobin hat sich mir ein etwas abweichendes Verfahren bewährt. Pferdeblut wird mit Ammonoxalat ungerinnbar gemacht und der daraus durch Absitzenlassen gewonnene Blutkörperchenbrei mit dem zweifachen Volumen Wasser verdünnt. Wird die so erhaltene Lösung mit dem gleichen Volumen kalter gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, so entsteht sofort ein ziemlich beträchtlicher, im Wesentlichen von aus dem Plasma stammendem Fibrinogen und Globulin herrührender Niederschlag. Dieser ballt sich erst nach einiger

---

[1]) Halliburton, Lehrb. d. chem. Physiol. u. Pathol., deutsch von Kaiser 1893. S. 302.

Hammarsten, Lehrb. d. physiol. Chem. 3. Aufl. 1895. S. 122.

Schenk u. Gürber, Leitfaden d. Physiologie d. Menschen. 1897. S. 30.

[2]) Arch. f. exp. Pharmak. u. Pathologie. 1892. Bd. 29. S. 250—251.

Digitized by Google

Zeit so zusammen, dass er beim Filtriren völlig zurückgehalten wird. Daneben beginnt alsbald Oxyhämoglobin auszukrystallisiren, was das Filtriren bedeutend erschwert, da sich die Poren des Filters rasch verstopfen. Auch in dem erhaltenen, völlig klaren Filtrat tritt bald Krystallisation ein, jedoch sind die so erhaltbaren Mengen von Haemoglobinkrystallen wegen der Ausscheidung auf dem Filter nur gering. — Erwärmt man die Haemoglobinlösung und die Ammonsulfatlösung vor dem Mischen auf 40°, so tritt die Ausscheidung von Hämoglobinkrystallen noch viel rascher ein, so dass das erhaltene Filtrat fast völlig frei von Blutfarbstoff ist. Kühlt man dagegen die beiden Lösungen vor dem Mischen im Eisschrank ab und lässt auch nach dem Mischen bis zum völligen Absetzen des Fibrinogen-Globulinniederschlages stehen, der übrigens die Stromata völlig mit niederreisst, so lässt sich die Krystallisation des Blutfarbstoffes zunächst fast ganz hintanhalten. Filtrirt man nun im Eisschrank, so erhält man ein völlig klares, dunkelrothes Filtrat, welches den Blutfarbstoff zum grössten Theil enthält und, auf Zimmertemperatur gebracht, bald eine reichliche Krystallausscheidung liefert, die sich auf erneuten Zusatz von wenig concentrirter Ammonsulfatlösung noch vermehrt. Nach einigen Tagen ist die Abscheidung vollendet und zwar so vollständig, dass das Filtrat fast ungefärbt erscheint. — Sie ist rein krystallinisch, ohne jegliche amorphe Beimengungen. Die Krystalle sind ausschliesslich rhombische Plättchen, von theilweise sehr beträchtlicher Grösse, während bekanntlich das Pferdehämoglobin, nach Hoppe-Seyler's Methode dargestellt, in Form von langen, vierseitigen Prismen zur Ausscheidung gelangt. Der Niederschlag wird durch ein Büchner'sches Filter an der Wasserstrahlpumpe abfiltrirt, durch Abpressen zwischen Filtrirpapier möglichst von der Mutterlauge befreit, sodann in Wasser gelöst und von Neuem mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung zum Ausfallen gebracht. Auf diese Weise lässt sich der Niederschlag mit Leichtigkeit mehrfach umkrystallisiren. Aus dem durch Abpressen erhaltenen festen Kuchen wittert Ammonsulfat an der Oberfläche aus und lässt sich leicht abstreifen. Der Kuchen lässt sich, wenn lufttrocken, zu einem feinen Pulver zerreiben, das sich leicht in Wasser löst. Die Lösung zeigt ein reines Oxyhämoglobinspectrum.

Auf diese Weise gelingt es, das Hämoglobin von den übrigen Eiweisskörpern zu trennen. Fibrinogen und Globulin fallen in halbgesättigter Ammonsulfatlösung vollständig aus, während das Albumin erst bei bedeutend höherer Concentration an Ammonsulfat zur Abscheidung gelangt, wie sie hier zur Anwendung kommt.

Während, wie oben erwähnt, bei dem von Dittrich angewandten Verfahren das Oxyhämoglobin schon während des Umkrystallisirens in Methämoglobin übergeht, erhält man also auf diese Weise ein reines krystallisirtes Oxyhämoglobin. Das so gewonnene Präparat ist jedoch nicht unbeschränkt haltbar; in einem Fall enthielt dasselbe nach ca. einem Jahr wesentlich Methämoglobin.

Digitized by Google

Die Fällungsgrenze für Fällung des Hämoglobins in amorphem Zustande liegt, nebenbei bemerkt, bedeutend höher, wie die für eine krystallinische Ausscheidung. Eine amorphe Fällung trat erst ein, wenn in 10 ccm. Lösung 6,5 ccm. concentrirte Ammonsulfatlösung enthalten waren. In den Proben, welche 5,0, 5,5, 6,0 ccm. concentrirte Ammonsulfatlösung in 10 ccm. enthielten, trat keine amorphe Ausscheidung, wohl aber nach längerem Stehen allmählich Krystallisation ein.

Diese Darstellungsweise eignet sich ihrer Bequemlichkeit halber gut für Versuche, wo es auf Salzfreiheit der Präparate nicht ankommt. Da es sich herausstellte, dass bei der Isolirung des Eiweisskörpers aus dem Hämoglobin der Salzgehalt störend wirkte, so wurde für die vorliegenden Untersuchungen, wie schon erwähnt, zumeist nach der Hoppe-Seyler'schen Methode dargestelltes Hämoglobin verwandt.

Spaltung des Hämoglobins und Trennung des Eiweisskörpers vom Farbstoff. Setzt man zu einer Hämoglobinlösung eine sehr geringe Menge stark verdünnter Salzsäure, so entsteht eine flockige braune Fällung, die sich im geringsten Ueberschuss von Säure sofort leicht löst. Die so erhaltene Lösung zeigt nicht mehr die schöne rothe Farbe der ursprünglichen Hämoglobinlösung, sondern, wie schon Lehmann angibt und Preyer bestätigt, einen braunen Farbenton; jedoch wird dadurch die Lösung nicht «nur in ihrer Farbe verändert», sondern es ist auch eine complete Trennung zwischen Eiweisskörper und Farbstoff eingetreten. Setzt man nämlich zu einer solchen Lösung, die eben sauer reagirt, Alkohol (ca. $^1/_5$ Vol.) und schüttelt nunmehr mit Aether aus, so tritt der ganze Farbstoff in den Aether über, während die untenstehende wässerig-alkoholische völlig klare Lösung den entfärbten Eiweisskörper enthält. Diese Spaltung und Trennung vollzieht sich mit ganz überraschender Leichtigkeit, wenn man einige Vorsichtsmassregeln beobachtet. Zunächst muss die Hämoglobinlösung salzfrei oder doch sehr salzarm sein. Verwendet man eine salzreichere Lösung, so tritt, wenn man nicht ausserordentlich vorsichtig verfährt, oder mit verdünnten Lösungen arbeitet, auf Säurezusatz nicht eine vorübergehende, sondern eine bleibende, im Ueberschuss von Säure unlösliche Fällung auf. Diese bleibende Fällung erfolgt auch in salzfreien Lösungen, wenn man, nachdem der zuerst sich bildende Niederschlag durch einen sehr geringen Ueberschuss von Säure gelöst ist,

Digitized by Google

nunmehr eine grössere Menge von Säure hinzusetzt. — Ein stärkerer Salzgehalt wirkt auch beim Ausschütteln der durch vorsichtigen Säurezusatz erhaltenen Lösung mit Alkohol-Aether störend. Die Trennung des Farbstoffs vom Eiweisskörper vollzieht sich zwar auch hier glatt, aber der Eiweisskörper bleibt nicht in Lösung, sondern wird ausgefällt, und nunmehr durch die Einwirkung des Alkohols leicht coagulirt.

In Betreff des Ausschüttelns mit Aether ist zu bemerken, dass sich die Trennung des Aethers von dem wässerigen Alkohol leicht und sehr glatt vollzieht, wenn ein bestimmtes Verhältniss zwischen Wasser, Alkohol und Aether besteht, welches man am besten in jedem Versuche ausprobirt. Man setzt zunächst ca. $^1/_5$ Vol. 80 % Alkohol zu der Hämoglobinlösung hinzu und versucht dann mit dem halben Vol. Aether auszuschütteln. Scheidet sich die Aetherschicht nicht sofort nach dem Schütteln glatt ab, so setzt man von Neuem etwas Alkohol hinzu und versucht, ob sich nunmehr der Aether auch nach heftigem Schütteln sofort abscheidet. Ist dies nicht der Fall, so setzt man so lange vorsichtig Alkohol hinzu, bis eine rasche und glatte Abscheidung eintritt. Arbeitet man mit sehr concentrirten Lösungen, so ist es zweckmässig, wenn man kurze Zeit heftig geschüttelt hat, den Aether zu erneuern.

Man erhält so eine klare, je nach der Concentration mehr oder weniger braungelb gefärbte wässerig-alkoholische, schwach saure Lösung. Aus dieser fällt beim Neutralisiren mit Ammoniak ein schwach gelblich gefärbter, grobflockiger Niederschlag aus. Derselbe wird, damit nicht etwa der Alkohol nunmehr coagulirend einwirkt, rasch auf einem Saugfilter abfiltrirt und dann mit Wasser gewaschen. Hierbei geht der Niederschlag, wenn das überschüssige Ammoniak weggewaschen ist, langsam in Lösung. Sobald der Niederschlag in nachweisbaren Mengen in das Waschwasser überzugehen beginnt, wird derselbe in Wasser, dem einige Tropfen verdünnter Essigsäure zugesetzt sind, gelöst. Die Lösung erfolgt rasch und vollständig. Nunmehr wird die überschüssige Essigsäure durch mehrtägiges Dialysiren gegen häufig gewechseltes destillirtes Wasser entfernt und so eine völlig

Digitized by Google

neutral reagirende, absolut klare, schwach gefärbte, geruch- und geschmacklose Globinlösung erhalten.

II. Eigenschaften des Globins.

Die in eben beschriebener Weise erhaltene Flüssigkeit, welche das Globin in ziemlicher Concentration enthält (ca. 2 %), bleibt beim Kochen fast völlig klar, sie zeigt nur einen leichten Schimmer von Trübung, der auf Zusatz der geringsten Menge von Essigsäure sofort verschwindet. In etwas verdünnterer Lösung bleibt diese Trübung ganz aus. Durch Spuren von Ammoniak, Natriumhydroxyd, Natriumcarbonat entsteht ein dicker flockiger Niederschlag, der sich jedoch im geringsten Ueberschuss wieder auflöst. Zur Hervorrufung dieses Niederschlags muss man ausserordentlich vorsichtig verfahren, da durch den geringsten Ueberschuss die Fällung ganz ausbleibt. [1]) Hat man Ammoniak im Ueberschuss hinzugesetzt, so lässt sich der Niederschlag durch Zusatz von etwas Ammoniumchlorid von Neuem erzeugen und bleibt nunmehr auch bei Zusatz eines grossen Ueberschusses von Ammoniak ungelöst. Fällt man den Eiweisskörper aus einer vorher mit Salzsäure angesäuerten Lösung, so bieten sich dieselben Verhältnisse dar. Das Globin wird also aus salzsaurer Lösung durch Ammoniak gefällt und löst sich nicht im Ueberschuss von Ammoniak, wohl aber in überschüssiger Kali- oder Natronlauge. Zusatz von 30 % Natronlauge im grossen Ueberschuss ruft jedoch eine dicke flockige Ausscheidung hervor.

Zusatz von Essigsäure bezw. Eisessig bewirkt weder in grossen noch in kleinen Mengen eine Fällung.

Einige Tropfen starker Salpetersäure erzeugen in ca. 2 ccm. Lösung einen dicken Niederschlag, der sich auch auf Zusatz eines grossen Ueberschusses von Säure in der Kälte nicht löst. Beim Kochen mit einem grossen Ueberschuss von Säure löst

[1]) Die gekochte Lösung lässt sich viel leichter durch verdünntes Ammoniak ausfällen, wie eine nicht gekochte, d. h. es ist ein grösserer Ueberschuss von Ammoniak nöthig, um den erzeugten Niederschlag zu lösen. Immerhin genügen einige Tropfen eines sehr stark verdünnten Ammoniakwassers, um diese Lösung herbeizuführen.

Digitized by Google

sich der Niederschlag, ohne beim Erkalten wiederzukehren. Der durch Zusatz von wenigen Tropfen Salpetersäure hervorgerufene Niederschlag löst sich beim Kochen ebenfalls fast völlig auf; beim Erkalten scheidet er sich jedoch in schönen Flocken wieder aus. Dieses Lösen und Wiederausfallenlassen kann man beliebig oft wiederholen. Besonders schön tritt diese Reaction zu Tage, wenn man die Probe in nicht zu concentrirter, mässig salzreicher Globinlösung anstellt. Setzt man zum Beispiel zu der salzfrei dialysirten Lösung erst etwas Ammoniumchlorid hinzu und dann starke Salpetersäure, so tritt beim Erwärmen eine vollständige Lösung des entstandenen Niederschlages ein. Der Niederschlag scheidet sich in diesem Falle auch, wenn man einen grossen Ueberschuss von Salpetersäure hinzugegeben hatte, beim Erkalten wieder aus.

Salzsäure verhält sich ganz wie Salpetersäure. Schwefelsäure ruft erst im grossen Ueberschuss eine Ausscheidung hervor, die beim Kochen sich löst, beim Erkalten jedoch nicht wiederkehrt. Phosphorsäure bewirkt keinen Niederschlag.

Die salzfreie Lösung des Globins wird durch Zusatz von Alkohol leicht und vollständig flockig gefällt. Setzt man zu der Lösung einen geringen Ueberschuss von Ammoniak, so erfolgt die Alkoholfällung viel später, erst wenn man das 3—4fache Volum 80 % Alkohol hinzugesetzt hat. Eine mit Essigsäure ganz schwach angesäuerte Lösung wird durch Alkohol überhaupt nicht gefällt. Zusatz von wenig Ammoniumchlorid verhindert sowohl bei neutraler, als auch bei alkalischer und saurer Reaction die Alkoholfällung.

Ueber das Verhalten der Lösung gegen Salze ist Folgendes zu bemerken. Ammonsulfat und Kochsalz fällen bei allmählichem Zusatz sehr früh, sowohl bei neutraler, als auch bei saurer, etwas später bei alkalischer Reaction. So entsteht z. B. bei Zusatz von 0,7 % NaCl zu einer neutralen Lösung eine ausgiebige Fällung, die sich jedoch, wenn man mit wenig verdünntem Natriumcarbonat alkalisch macht, wieder vollständig löst.

Ammoniumchlorid ruft bei neutraler und saurer Reaction keinen Niederschlag hervor, wohl aber, wie schon oben erwähnt, bei durch Ammoniak bedingter alkalischer Reaction.

Digitized by Google

Magnesiumsulfat fällt bei neutraler und bei durch Ammoniak erzeugter alkalischer Reaction. Calciumchlorid, neutrales Bleiacetat, Kupfersulfat, Eisenchlorid, Natriumphosphat fällen nicht. Natriumphosphat ruft eine leichte Trübung hervor, die beim Erwärmen verschwindet, beim Erkalten wiederkehrt.

Es ist von Interesse, dass das Globin in neutraler Lösung unter gewissen Bedingungen beim Kochen sich ausscheidet und dann auch beim Erkalten ausgeschieden bleibt. Es ist schon vorher erwähnt, dass eine mässig concentrirte neutrale, salzfreie Globinlösung beim Kochen einen leichten Schimmer von Trübung zeigt und hierbei so verändert wird, dass ein durch Ammoniak erzeugter Niederschlag sich nicht mehr so leicht im Ueberschuss von Ammoniak löst, wie bei einer ungekochten Lösung. Setzt man zu einer solchen nicht gekochten Globinlösung vorsichtig äusserst verdünntes Ammoniak, so erreicht man einen Punkt, bei welchem in der Kälte noch keine Spur von Trübung wahrnehmbar ist, beim Kochen aber complete Ausscheidung des Globins zu Stande kommt, welches sich nunmehr ebenfalls im Ueberschuss von Ammoniak nicht mehr mit derselben Leichtigkeit löst, wie der durch Ammoniak in einer nicht gekochten Lösung erzeugte Niederschlag.

Die beim Kochen entstandene Globinfällung verschwindet sofort vollständig bei Zusatz der geringsten Mengen Essigsäure. Es genügt, wenn man einen Tropfen verdünnter Essigsäure in ca. 20 ccm. Wasser bringt und von dieser ausserordentlich verdünnten Essigsäure einen Tropfen hinzusetzt.

Dieselben Verhältnisse kann man herstellen, wenn man in einer schwach essigsauren Lösung des Globins die Säure vorsichtig mit Ammoniak neutralisirt, so dass noch keine Ausscheidung eintritt. In diesem Falle trifft man den Punkt, bei welchem die Lösung durch Kochen gefällt wird, bedeutend leichter, als wenn man, wie oben geschildert, verfährt. Ueberhaupt scheint ein geringer Salzgehalt die Fähigkeit des Globins, in der Wärme zu coaguliren, günstig zu beeinflussen, wie namentlich auch aus einem später anzuführenden Beispiel hervorgeht. Bei dieser durch Kochen hervorrufbaren Fällung des Globins handelt es sich um eine Art Coagulation, bei der der

Digitized by Google

betreffende Eiweisskörper zwar nicht in eine unlösliche, aber in eine etwas schwieriger lösliche Modification übergeführt wird. Der durch Kochen erzeugte Niederschlag geht beim Erkalten nicht mehr in Lösung und ist in Ammoniak, wie erwähnt, wenn auch noch immer sehr leicht, so doch auffallend schwerer löslich, wie ein nicht gekochter Niederschlag.

Behandelt man einen Globinniederschlag, der z. B. durch Ammoniak erzeugt ist, auf dem Filter mit absolutem Alkohol, und dann mit Aether, so geht derselbe in eine andere coagulirte Modification über, welche auffallend schwer in Säuren und Alkalien löslich ist.

Das Verhalten der Globinlösung gegenüber Alkaloidreagentien ist folgendes: Essigsäure und Ferrocyankalium erzeugen einen starken Niederschlag, der sich im Ueberschuss von Essigsäure und beim Erwärmen nicht löst. Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Jodquecksilberjodkalium rufen in salzsaurer Lösung ausgiebige Fällungen hervor. Pikrinsäure wirkt fällend, der Niederschlag ist beim Erwärmen nicht löslich. Auch Trichloressigsäure wirkt fällend, Metaphosphorsäure nicht.

Die Biuretprobe erzeugt eine schöne violette Färbung. Die Xanthoproteinreaction ist zwar schwach, aber deutlich positiv. Die Millon'sche Reaction zeigt eine schwache Rothfärbung des entstehenden Niederschlags. Die Reaction von Adamkiewicz ist zwar schwach aber ausgesprochen positiv; namentlich nach einigem Stehen tritt eine deutliche violette Färbung auf. Die α-Naphtholreaction nach Molisch fällt, in der Globinlösung angestellt, völlig negativ aus; es entsteht nur eine Gelbfärbung, keine Spur von Rothfärbung. Wird zu der Reaction von Molisch nicht eine Globinlösung, sondern ein auf später zu beschreibende Weise gewonnenes trockenes Globinpulver verwandt, so tritt eine sehr schwache, fast momentan vorübergehende Rothfärbung auf. Kochen mit Bleiacetat und 30procentiger Natronlauge giebt keine Spur von Schwärzung.

Eine Probe der Globinlösung wurde mit Pepsinsalzsäure 4 Stunden bei Brüttemperatur verdaut. Die Reactionen des Globins waren völlig verschwunden. Die Lösung war durch Ferrocyankalium-Essigsäure nicht mehr fällbar. Die Biuret-

Digitized by Google

reaction war sehr stark ausgesprochen und zeigte eine charakteristische Rothfärbung. Durch Sättigen mit Kochsalz, sowie auch mit Ammoniumsulfat war die Lösung bei saurer Reaction nicht fällbar. Durch Phosphorwolframsäure entstand ein dicker Niederschlag. Die Globinlösung war also auffallend rasch und vollständig durch Magenverdauung in echtes (Kühne'sches) Pepton übergegangen.

Eine andere Probe einer Globinlösung wurde mit 0,5 % Natriumcarbonat und einer als gut wirksam befundenen, nach der Kühne'schen Methode durch Ausfällen mit Ammonsulfat hergestellten Trypsinlösung versetzt und auf Brüttemperatur gebracht. Schon nach wenigen Stunden liess sich durch Essigsäure und Ferrocyankalium nur mehr eine schwache Trübung erzeugen. Dies Verhalten änderte sich nicht weiter, auch nachdem die Lösung 48 Stunden verdaut worden war. Die Tryptophanreaction mit Bromwasser blieb aus. Millon'sche Reaction war schwach, schmutzig roth. Ein Theil der Flüssigkeit wurde zur Trockne verdunstet. Hierbei schieden sich deutlich Leucinkugeln aus. Tyrosinkrystalle waren nicht nachzuweisen.

Des Weiteren wurde trockenes Globinpulver (s. unten) mit rauchender Salzsäure am Rückflusskühler 5 Stunden gekocht. Dann wurde durch Destillation mit strömendem Wasserdampf die Hauptmenge der Salzsäure vertrieben. Der Rest wurde mit Bleicarbonat neutralisirt, von dem entstehenden Niederschlag wurde abfiltrirt, das entbleite Filtrat zur Trockne verdunstet. Auch hier liessen sich zahlreiche typische Leucinkugeln, dagegen nicht mit Sicherheit Tyrosinnadeln nachweisen.

Beim Schmelzen einer kleinen Probe Globin mit Aetzkali kam es zur Bildung von flüchtigen Fettsäuren und Entwicklung von Skatolgeruch.

III. Zusammensetzung des Globins.

Zur Feststellung der elementaren Zusammensetzung wurden zwei von verschiedenen Darstellungen herrührende Präparate analysirt.

Beide waren in folgender Weise hergestellt: Pferdeoxyhämoglobin wurde in Wasser unter gelindem Erwärmen (auf 40°) gelöst, die Lösung

Digitized by Google

mit verdünnter Salzsäure bis zum Eintreten des Farbenumschlages ins Braune versetzt, in der oben geschilderten Weise nach Zusatz von Alkohol mit Aether so oft ausgeschüttelt, bis derselbe bei erneutem Schütteln keinen Farbstoff mehr aufnahm. Die so erhaltene wässerig-alkoholische saure Lösung wurde mit Ammoniak ausgefällt, der Niederschlag abfiltrirt, in sehr verdünnter Essigsäure wieder gelöst, und filtrirt; das Filtrat nochmals mit Ammoniak ausgefällt und der Niederschlag auf einem Seidenfilter gesammelt. Der Niederschlag wurde zunächst mit absolutem Alkohol, dann mit Wasser, dann nochmals mit Alkohol und schliesslich mit Aether ausgewaschen. Sodann wurde er zunächst an der Luft, dann im Trockenschrank bei 100° getrocknet, pulverisirt und der Analyse unterzogen.

Das so erhaltene Präparat stellte, wenn es nicht zu scharf getrocknet war, ein gelbliches, sehr lockeres, nicht wesentlich hygroskopisches Pulver dar. Es enthielt keinen Phosphor.

Die Zusammensetzung ergab sich wie folgt:

Präparat I.

Aschebestimmung. 0,648 gr. Substanz lieferten 0,0038 gr. Asche.

C- und H-Bestimmung mit Kupferoxyd und vorgelegter reducirter Kupferspirale.

I. 0,2021 gr. lieferten 0,4064 gr. CO_2 = 54,84% C
0,1303 gr. H_2O = 7,16% H

II. 0,2643 gr. lieferten 0,5300 gr. CO_2 = 54,69% C
0,1673 gr. H_2O = 7,03% H

III. 0,1701 gr. lieferten 0,3405 gr. CO_2 = 54,59% C
0,1093 gr. H_2O = 7,14% H

N-Bestimmung nach Kjeldahl.

IV. 0,0830 gr. lieferten 0,01412 gr. N = 17,01%
V. 0,0888 gr. lieferten 0,01497 gr. N = 16,86%
VI. 0,1445 gr. lieferten 0,02430 gr. N = 16,82%
VII. 0,174 gr. lieferten 0,02939 gr. N = 16,89%

S-Bestimmung nach v. Asboth.[1])

VIII. 1,050 gr. lieferten 0,0313 gr. $BaSO_4$ = 0,41% S.

Präparat II.

Aschebestimmung. 0,4395 gr. lieferten 0,0037 gr. Asche = 0,84%.

C- und H-Bestimmung mit Kupferoxyd und vorgelegter reducirter Kupferspirale.

I. 0,2679 gr. lieferten 0,5333 gr. CO_2 = 54,29% C
0,1732 gr. H_2O = 7,18% H

II. 0,1915 gr. lieferten 0,3839 gr. CO_2 = 54,67% C
0,1258 gr. H_2O = 7,29% H

---

1) S. Düring. Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. XXII, S. 281.

Digitized by Google

III. 0,2147 gr. lieferten 0,4284 gr. CO_2 = 54,42 % C
0,1372 gr. H_2O = 7,10 % H

N-Bestimmung nach Kjeldahl

IV. 0,1245 gr. lieferten 0,02062 gr. N = 16,56 %

V. 0,1028 gr. lieferten 0,01721 gr. N = 16,74 %.

S-Bestimmung nach v. Asboth.

VI. 1,174 gr. lieferten 0,0368 gr. $BaSO_4$ = 0,43 % S.

Die Asche des Globinpulvers zeigte das typische Aussehen einer eisenoxydhaltigen Asche. Dieses Eisen gehört nicht zu dem Globinmolekül, sondern ist als eine von der Darstellung herrührende Verunreinigung aufzufassen, und zwar rührt dieselbe, wie schon die Farbe des Präparates lehrt, keinesfalls von merklichen Mengen zurückbehaltenen Hämatins her. Ueberdies ist das Eisen des Globins nachweislich zum Theil nicht in organischer Bindung vorhanden. Versetzt man eine Globinlösung mit wenig Essigsäure und Ferrocyankalium, so tritt beim Stehen auch in der Kälte, besonders aber beim Kochen, eine deutliche Blaufärbung auf, die auf das Vorhandensein eines Ferrisalzes hinweist. Es ist übrigens bekannt, dass das Hämatin beim Einwirken von Säuren leicht Eisen abspaltet, und auch im vorliegenden Falle hat vermuthlich die geringe Menge Mineralsäure, welche zur Spaltung des Hämoglobins nöthig war, genügt, um einen Theil des Eisens aus seiner festen organischen Bindung freizumachen. Aus diesen Gründen wurden in den obigen Zusammenstellungen die Analysen auf aschefreie Substanz berechnet.

Präparat I. Aschegehalt 0,58 %.

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.		
C	55,18	55,00	54,92							
H	7,20	7,07	7,18							
N				17,11	16,96	16,92	16,99			
S								0,41 %		

Präparat II. Aschegehalt 0,84 %.

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.				
C	54,75	55,13	54,89							
H	7,24	7,35	7,16							
N				16,70	16,88					
S						0,43				



Digitized by Google

Das Präparat I hatte demnach die Zusammensetzung:

C 55,03 %, H 7,15 %, N 16,99 %, S 0,41 %.

Präparat II:

C 54,92 %, H 7,25 %, N 16,79 %, S 0,43 %.

Die beiden Präparate sind somit als identisch zu betrachten, und es ergibt sich als mittlere Zusammensetzung des Globins:

C 54,97 %, H 7,20 %, N 16,89 %, S 0,42 %.

IV. Beziehung des Globins zum Hämoglobin.

Für die Beurtheilung der Beziehung zwischen dem Globin und seiner Muttersubstanz ist es von Wichtigkeit, zu wissen, ob es bei seiner Bildung sich um eine einfache Abspaltung handelt, oder um tiefergreifende Veränderungen. Dies lässt sich beurtheilen erstens aus der Natur der vorgenommenen Eingriffe und zweitens aus der Natur des gewonnenen Körpers.

Die zu der Spaltung erforderliche Menge von Säure ist ausserordentlich gering, so dass eine stärkere chemische Veränderung durch dieselbe wohl kaum hervorgerufen werden kann. Es ist zwar bekannt, dass Eiweisskörper durch Säure relativ leicht in Acidalbumin übergeführt werden können. Aber durch so geringe Mengen, wie sie hier zur Anwendung kommen, wird wohl nur das Fürth'sche[1]) Myogen in Acidalbumin verwandelt (bei 10 ccm. Myogenlösung wirkte schon 1 Tropfen $^1/_{10}$ Normalsalzsäure). Aber bei der vorliegenden Spaltung entsteht kein Acidalbumin, sondern ein Körper von anderen Eigenschaften. Es ist daher wohl berechtigt, anzunehmen, dass dieser mit charakteristischen Eigenschaften versehene Körper auch in dem Hämoglobinmolekül als solcher vorhanden ist.

Die Spaltung erfolgt so leicht, dass man unwillkürlich an die alte Struve'sche Anschauung[2]) erinnert wird, wonach «die Hämoglobinkrystalle als Krystalle einer farblosen, eiweiss-

---

1) O. v. Fürth, Ueber die Eiweisskörper des Muskelplasmas. Arch. für experim. Path. u. Pharm. 1895. Bd. 36, S. 249.

2) Struve, Studien über das Blut. Journal für prakt. Chemie 1884, N. F., Bd. 29, S. 313.


Digitized by Google

artigen Substanz aufzufassen sind, die bisher noch nicht in reinem Zustande hergestellt werden konnten, sondern immer von kleinen, aber überaus gleichen Quantitäten eines oder verschiedener Blutfarbstoffe mechanisch gefärbt sind». Geht auch diese Auffassung zu weit, so kann man sich doch der Vorstellung nicht entschlagen, dass es sich um eine sehr lockere salzartige oder, wie Hoppe-Seyler annahm, esterartige Verbindung handeln muss.

Auch die Annahme, dass der Eiweisskörper durch die Einwirkung des Alkohols, bezw. des Alkohol-Aethers, eine tiefergreifende Veränderung erfahren hätte, ist zurückzuweisen. Eine solche Einwirkung ist, ohne dass eine Fällung bezw. eine Coagulation stattgefunden hätte, für einen andern Eiweisskörper bisher nicht bekannt, lässt sich aber auch für das Globin mit Sicherheit ausschliessen, da man das Globin auch ohne Einwirkung von Alkohol-Aether darstellen kann.

Dialysirt man eine zerlegte Hämoglobinlösung — die zu diesen Versuchen verwandte Lösung war von der Darstellung her noch ammonsulfathaltig — zunächst gegen Leitungswasser, dann gegen destillirtes Wasser, so tritt, anscheinend bedingt durch die allmähliche Wegschaffung der Säure, nach einigen Tagen ein rother Niederschlag auf. Filtrirt man nunmehr ab, so erhält man ein schwach braungelbes klares Filtrat, welches die charakteristischen Eigenschaften einer Globinlösung aufweist. Dasselbe gibt 1. mit einem Ueberschuss von Salpetersäure einen Niederschlag, der sich beim Kochen völlig wieder löst, beim Erkalten wiederkehrt. 2. Mit sehr verdünntem Ammoniak entsteht ein Niederschlag, der sich in geringstem Ueberschuss wieder löst, aus dieser Lösung aber durch wenig Chlorammonium gefällt wird, um sich nun auch im grossen Ueberschuss von Ammoniak nicht wieder zu lösen. 3. Beim Kochen fällt der Eiweisskörper aus, löst sich aber auf Zusatz der geringsten Menge Essigsäure sofort vollständig. Diese Eigenschaft besitzt die durch Ammonfällung erhaltene, salzfrei dialysirte Globinlösung nicht; sie ist anscheinend durch den stärkeren Gehalt an Farbstoff bedingt, der hier wohl ähnlich wie dort ein geringer Salzzusatz wirkt.

Digitized by Google

Diese Darstellungsweise wurde zur Gewinnung des Globins nicht allgemein benutzt, einmal weil sich der Farbstoff weniger vollständig entfernen lässt, sodann weil die Ausbeute an Globin bei diesem Verfahren viel geringer ist.

Eine dritte Darstellungsweise gründet sich auf die Eigenschaft des Globins, durch Ueberschuss von Salzsäure bezw. Salpetersäure in der Kälte auszufallen und beim Kochen sich wieder zu lösen. Versetzt man eine Hämoglobinlösung — am besten eine ammonsulfathaltige, da diese eine geringere Säuremenge erfordert — mit soviel starker Salzsäure, dass ein bleibender Niederschlag erfolgt, kocht nunmehr einige Zeit heftig und filtrirt möglichst heiss, so erhält man ein völlig farbloses Filtrat, aus welchem sich beim Erkalten ein flockiger, fast weisser Niederschlag abscheidet. Derselbe löst sich beim Verdünnen der Säure durch Wasser bezw. Abstumpfen mit Ammoniak auf und fällt beim Neutralisiren mit Ammoniak aus, ohne sich im Ueberschuss von Ammoniak zu lösen. Der aus dem heissen Filtrat beim Erkalten abgeschiedene Niederschlag, abfiltrirt, mit Alkohol coagulirt, mit Wasser, Alkohol, Aether gewaschen, getrocknet und zum Vergleich auf seinen Stickstoffgehalt untersucht, ergab 16,87 % N (Mittel von 16,82 und 16,93), also ebensoviel wie die beiden früher untersuchten Präparate. Wenngleich sonach durch dieses Kochen mit Säure anscheinend keine Spaltung des Globins erfolgt war, so wurde doch von einer weiteren Benutzung dieses Verfahrens abgesehen, zumal auch hier die Ausbeute nur gering war.

Es ergibt sich sonach kein Anhaltspunkt, welcher auf eine tiefergreifende Veränderung des Globinmoleküls bei seiner Abspaltung aus dem Hämoglobin hinwiese.

Es entsteht nunmehr die Frage, sind Hämatin und Globin die einzigen Spaltungsprodukte des Hämoglobins? Um diese Frage zu beantworten, wurde zunächst ein quantitativer Versuch ausgeführt.

1,788 gr. Oxyhämoglobin (trocken) wurden in Wasser gelöst, mit Säure gespalten und in der geschilderten Weise die Abtrennung des Farbstoffes vorgenommen. Der gesammte Aether, welcher den Farbstoff enthielt, wurde abgedampft; der trockene Rückstand wog 0,075 gr. Aus der

Digitized by Google

wässerig alkoholischen Lösung wurde das Globin durch Neutralisiren mit Ammoniak unter Zusatz von Chlorammonium ausgefällt. Der Niederschlag wurde auf einem gewogenen Filter gesammelt, getrocknet, gewogen; Gewicht 1,547 gr.

Das Oxyhämoglobin hatte also 4,2 % Farbstoff, 86,5 % Globin geliefert. 9,3 % entgingen hierbei dem Nachweis. In Betreff dieses Deficits ist zu bemerken, dass dasselbe noch nicht strikte das Vorhandensein eines weiteren Spaltungsproduktes beweist, denn es wäre auch möglich, dass die Globinfällung durch Ammoniak auch unter Zusatz von Chlorammonium keine vollständige wäre. In der That zeigen später mitzutheilende Befunde, dass nach dem Ausfällen des Globins in der wässerig-alkoholischen Mutterlauge noch Reste des Globins oder wenigstens eines dem Globin nahestehenden Körpers nachweisbar sind, allerdings augenscheinlich nicht entfernt in solchen Mengen, dass dadurch das ganze Deficit von 9,3 % gedeckt würde.

Aber auch aus der elementaren Zusammensetzung des Globins geht hervor, dass Hämatin und Globin nicht die einzigen Spaltungsprodukte des Hämoglobins sein können, denn beide sind wesentlich kohlenstoffreicher als das Hämoglobin. Da die Angaben in der Litteratur über die elementare Zusammensetzung des Pferdehämoglobins nicht genügend übereinstimmen, wurde das zu dieser Untersuchung verwandte Präparat der Elementaranalyse unterworfen.

I. 0,2743 gr. Substanz, im offenen Rohr mit Kupferoxyd und vorgelegter reducirter Kupferspirale verbrannt, lieferten
0,5474 gr. CO_2 = 54,42 % C

II. 0,3432 gr. Substanz lieferten 0,6881 gr. CO_2 = 54,68 % C
und 0,2227 gr. H_2O = 7,21 % H

III. 0,4017 gr. Substanz lieferten 0,8027 gr. CO_2 = 54,59 % C
und 0,2563 gr. H_2O = 7,09 % H

IV. 0,137 gr. Substanz lieferten (nach Kjeldahl)
0,02365 gr. N = 17,26 %

V. 0,109 gr. Substanz lieferten (nach Kjeldahl)
0,01898 gr. N = 17,41 %

VI. Schwefelbestimmung nach v. Asboth
1,971 gr. Hämoglobin lieferten 0,062 gr. Baryumsulfat = 0,43 % S.

Digitized by Google

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.		
C	54,42	54,68	54,59					
H		7,21	7,09					
N				17,26	17,41			
S						0,43		

Die elementare Zusammensetzung des untersuchten Hämoglobinpräparates war also C 54,56%, H 7,15%, N 17,33% S 0,43%.

Hoppe-Seyler[1]) schreibt dem Pferdehämoglobin die Zusammensetzung C 54,87%, H 6,97%, N 17,31%, S 0,44% zu.

Die von mir gefundenen Werthe stimmen mit den Hoppe-Seyler'schen, namentlich was den Stickstoff- und Schwefelgehalt betrifft, sehr gut überein. Auch die geringen Abweichungen im Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalte liegen fast innerhalb der zulässigen Fehlergrenzen. Analysen von Otto und von Bücheler[2]) ergaben C 54,76 H 7,03 bezw. C 54,40 H 7,20, also Werthe, denen sich die von mir gefundenen noch mehr nähern.

Da aus 100 Theilen Oxyhämoglobin 86,5 Theile Globin von der Zusammensetzung C 54,97%, H 7,20%, N 16,89%, S 0,42% und 4,2 Theile Hämatin von der Zusammensetzung C 64,2%, H 5,5%, N 8,8% entstehen (nach der Hoppe-Seyler'schen Formel $C_{34}H_{35}N_4O_5$ Fe berechnet), so lässt sich leicht entnehmen, dass ein abgespaltener dritter Körper, um das Deficit zu decken, kohlenstoffärmer und stickstoffreicher sein müsste als das Globin und das Hämatin. Das Einsetzen einer der anderen für das Hämatin aufgestellten For-

[1]) s. dessen Handbuch der chem. Analyse, 6. Aufl. 1893. S. 275. In der Tabelle gibt Hoppe-Seyler den Schwefelgehalt zu 0,65% an. Im Text dagegen schreibt er, anscheinend auf Grund neuer Untersuchungen, dem Pferdehämoglobin den von mir in der Formel eingesetzten Schwefelgehalt von 0,44% zu.

[2]) s. die Tabelle in Hoppe-Seyler's Handbuch, S. 275.

Digitized by Google

meln[1]) würde an dieser Ueberlegung nichts ändern, ebensowenig eine Verminderung des Deficits in Folge unvollständiger Fällung des Globins.

Bei der Spaltung des Hämoglobins haben Hoppe-Seyler[2]) und auch Preyer[3]) constant Ameisensäure und Buttersäure als Spaltungsprodukte auftreten sehen. Setzt man zu einer Hämoglobinlösung Salzsäure bis zum Eintreten des Farbenumschlags, neutralisirt dann mit Ammoniak zurück, filtrirt von dem beim Neutralisiren entstehenden Niederschlag ab, so erhält man ein kaum gefärbtes Filtrat. Aus demselben lässt sich auf Zusatz eines grossen Ueberschusses von Schwefelsäure keine flüchtige Säure durch Destillation austreiben. Dieser Widerspruch mit dem Befunde Preyer's und Hoppe-Seyler's ist wohl darauf zurückzuführen, dass diese mit energischer wirkenden Zersetzungsmitteln arbeiteten.

Nach der elementaren Zusammensetzung, die sich aus dem Deficit berechnen lässt, kann man an einen protaminartigen Körper denken. Dieser müsste sich in der wässerig-alkoholischen Mutterlauge nachweisen lassen. Zur Prüfung dieser Vermuthung wurde nachstehender Versuch angestellt.

5 gr. Hämoglobin wurden in der mehrfach beschriebenen Weise bearbeitet. Die wässerig-alkoholische Mutterlauge gab nach dem Ausfällen des Globins keine Biuretreaction. Mit Phosphorwolframsäure liess sich aber nach Zusatz von Salzsäure ein geringer Niederschlag erzielen, der nach dem Absetzen deutliche Biuretreaction gab. Auch mit wenig Kupfersulfat trat eine geringe Fällung ein, während selbst concentrirte Globinlösungen von Kupfersulfat nicht gefällt wurden. Die Mutterlauge wurde auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft. Der verbleibende Rückstand schien wesentlich geringer, als einem Deficit von 9,3% entsprochen hätte; das genauere Gewicht konnte jedoch nicht festgestellt werden, da bei der Darstellung beträchtliche Mengen von Chlorammonium hinzugekommen waren.

Der Rückstand wurde mit absolutem Alkohol aufgenommen, wobei ein grosser Theil ungelöst blieb. Die alkoholische Lösung wurde abgedampft, wobei sich der Rückstand als vorwiegend aus Chlorammonium bestehend erwies; ausserdem enthielt derselbe, in sehr geringen Mengen,

---

1) Nencki u. Sieber, Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Bd. XVIII, S. 401, u. Bd. XX, S. 325.
Cloëtta, ebendaselbst. Bd. XXXVI, S. 349.
Rosenfeld, ebendaselbst. Bd. XL, 1897. S. 137.

2) Hoppe-Seyler, Med. chem. Untersuch. S. 378.

3) Preyer, Die Blutkrystalle. Jena, 1871, S. 209.

Digitized by Google

einen Körper, welcher auch in dem in Alkohol ungelöst gebliebenen Rückstand sich vorfand. Beide gingen nämlich in wenig Wasser unvollständig in Lösung. Die Lösungen verhielten sich gleich; sie zeigten keine Salpetersäurereaction (die vorhandene Menge gelöster Substanz war möglicher Weise zu gering). Durch weniger wie das gleiche Volumen concentrirter Ammonsulfatlösung entstand eine Trübung; mit Essigsäure-Ferrocyankalium eine leichte, flockige Ausscheidung, ebenso mit Gerbsäure und Phosphorwolframsäure. Biuretreaction war deutlich, Millon'sche Reaction nicht sicher positiv; mit sehr wenig Kupfersulfat trübte sich die Flüssigkeit, mit absolutem Alkohol entstand eine Trübung, die auch bei längerem Kochen nicht flockig wurde, sich jedoch bei Zusatz von Wasser vollständig löste.

In der wässerig-alkoholischen Mutterlauge war also noch ein Proteinkörper nachweisbar, allerdings in geringer Menge. Dass es sich nicht um unverändertes Globin handelte, sondern um einen Körper vom Verhalten einer primären Albumose, wird durch die Fällbarkeit durch Kupfersulfat und die Nichtcoagulirbarkeit des Körpers durch Alkohol wahrscheinlich gemacht.

Durch die vorstehenden Beobachtungen und analytischen Resultate ist man zu dem Schlusse gedrängt, dass Hämatin und Globin nicht die einzigen Spaltungsprodukte des Hämoglobins sind; über die Natur des Bestandtheiles, welcher dem Deficit entspricht, müssen weitere Untersuchungen Aufklärung bringen.

V. Chemische Natur und Stellung des Globins.

Das Globin stellt seinem Verhalten nach eine Base dar, welche aus ihrer salz- oder esterartigen Verbindung mit dem sauren Hämatin durch die Einwirkung von Säure abgespalten wird. Dies gibt uns eine Erklärung für die auffallend leichte Spaltbarkeit des Hämoglobins. Denn da das Globin, wie alle nativen Eiweisskörper, ein sehr hohes Molekulargewicht besitzt, ist ein minimaler Theil Salzsäure schon einer recht beträchtlichen Menge Globin aequivalent. Die entstehende Chlorverbindung des Globins ist in Wasser löslich; durch Einwirkung von Ammoniak (und anderen Alkalien) wird das Globin als solches frei, dies ist in Wasser unlöslich, dagegen löslich in Alkalien.

Digitized by Google

Das Globin enthält, wie alle Eiweisskörper, die Protamingruppe (vgl. Biuret- und Alkaloidreactionen), ferner einen aromatischen Kern, wie aus dem positiven Ausfall der Millon'schen Reaction sowie der Reaction von Adamkiewicz hervorgeht; es ist jedoch fraglich, ob in einer solchen Form, dass sich daraus bei der Spaltung Tyrosin bildet. Ob sich in dem Globinmolekül eine Kohlehydratgruppe befindet, ist nach dem Ausfall der Furfurolreactionen zu bezweifeln. Auch die elementare Zusammensetzung spricht nicht für das Vorhandensein einer grösseren Menge Kohlehydrat. Denn der auffallend hohe Kohlenstoffgehalt, der höher ist wie bei irgend einem anderen thierischen Eiweisskörper, und auch die relativ hohe Stickstoffmenge sprechen gegen die Anwesenheit einer grösseren Menge eines Kohlehydrates.

Von Interesse ist ferner der auffallend geringe Schwefelgehalt des Globins. Derselbe entspricht jenem des Hämoglobins. Im Pferdehämoglobin muss man wegen des Eisengehaltes mindestens 2 Atome Schwefel annehmen. Daraus folgt jedoch nicht, dass auch im Globinmolekül zwei Schwefelatome enthalten sind, denn es ist gerade so gut möglich, dass zur Bildung des Hämoglobins zwei Moleküle Globin mit je einem Schwefelatom sich mit einem Hämatin gepaart haben. Immerhin ist das Molekül des Globins selbst für einen Eiweisskörper ein grosses; aus dem Schwefelgehalt ergibt es sich zu etwa 76,00 oder einem Multiplum davon.

Wir sind gewohnt, die Eiweisskörper nach bestimmten, mehr physikalischen Eigenschaften in Gruppen einzutheilen. Es fragt sich nun, in welche davon lässt sich das Globin einreihen. Es hat zunächst eine Reihe von Reactionen mit den Acidalbuminen gemeinsam. Auch in den Acidalbuminen ist das Eiweiss als Base vorhanden; sie sind wie das Globin in verdünnter Säure löslich, fallen beim Neutralisiren aus, sind durch Salze fällbar, lassen sich unter bestimmten Verhältnissen coaguliren. Dem stehen jedoch eine Reihe von Unterschieden gegenüber, zunächst mehr quantitativer Natur. Der Neutralisationsniederschlag ist bei den Acidalbuminen bei Weitem nicht mit derselben Leichtigkeit in Alkali und ganz besonders nicht

Digitized by Google

in Säuren löslich, wie beim Globin. Acidalbumin, wenn gefällt, coagulirt beim Sieden und wird sehr schwer löslich in Säuren und Alkalien. Diese Form der Coagulation geht dem Globin ab. Anderseits fehlt den Acidalbuminen die specifische Fällbarkeit durch Ammoniak aus chlorammonhaltiger Lösung und die Fähigkeit des in saurer Lösung entstandenen Coagulums sich in der Wärme zu lösen, beim Erkalten auszufallen.

Letztere Eigenschaft weist auf die primären Albumosen hin, mit denen aber sonst keine Uebereinstimmung besteht; denn einmal fallen die Albumosen in verdünnter Lösung beim Neutralisiren nicht aus, sodann sind die Salzfällungsverhältnisse ganz andere; Kochsalz und Ammonsulfat wirken schon in ganz geringen Concentrationen fällend auf eine Globinlösung. Globin ist z. B. schon in 0,75 % Kochsalzlösung unlöslich, während die Albumosen erst von concentrirter Kochsalzlösung gefällt werden, und da noch unvollständig. Sodann spricht ferner die Fällbarkeit des Globins beim Kochen unter den vorher beschriebenen Verhältnissen gegen die Albumosennatur des Globins. Schliesslich fehlt den Albumosen die Eigenschaft, in echte coagulirte Modificationen überzugehen, die dem Globin in ausgesprochenem Maasse zukommt. Von dem Verhalten bei intravenöser Injection, welches gegen eine Albumosennatur des Globins spricht, wird noch später ausführlicher die Rede sein.

Das Globin erweist sich vielmehr in seinen wesentlichen Eigenschaften als ein Histon.

Als Histon bezeichnete Kossel[1]) zuerst einen aus den rothen Blutkörperchen der Gans dargestellten Eiweisskörper. Die Masse der durch Centrifugiren abgetrennten Blutkörperchen wurde durch Zusatz von Wasser und Aether gelöst, die Kernsubstanz bis zur völligen Entfärbung ausgewaschen. Dieselbe konnte nunmehr durch Einwirkung von Salzsäure in Nuclein, welches ausfällt, und «Histon», welches in Lösung bleibt, gespalten werden. Später hat Lilienfeld[2]) einen ebensolchen

---

1) A. Kossel. Ueber einen peptonartigen Bestandtheil des Zellkerns. Zeitschr. f. physiol Chemie 1884. VIII. S. 511—515.

2) L. Lilienfeld. Zur Chemie der Leucocyten. Zeitschrift für physiol. Chemie. 1894. XVIII. S. 475—486.

Digitized by Google

Körper aus Leucocyten, die er aus Lymphdrüsen und Thymusdrüsen gewonnen hatte, isolirt. Auch hier war das Histon mit dem Nuclein zu sogenanntem Nucleohiston verbunden und wurde durch Säureeinwirkung aus demselben freigemacht. Neuerdings wurde das Histon auch als Ausscheidungsprodukt im leucämischen Harn von Kolisch und Burian[1]) gefunden.

Das Histon hat nach Kossel folgende Eigenschaften. Aus salzsaurer Lösung wird es durch Steinsalz gefällt; beim Dialysiren einer so gefällten Lösung geht das Histon wieder in Lösung. Seine neutrale Lösung wird gefällt durch Ammonsulfat, Chlorammonium, Magnesiumsulfat, Kochsalz, Natriumcarbonat; ferner entsteht ein Niederschlag durch Ammoniak, Kalkwasser, Aetznatron (im Ueberschuss leicht löslich), Salpetersäure (beim Erwärmen verschwindend, beim Erkalten wiederkehrend). Die Lösung ist nicht fällbar oder wird nur getrübt durch Calciumchlorid, Quecksilberchlorid, neutrales oder basisches Bleiacetat, Natriumphosphat, Essigsäure, Schwefelsäure. Die concentrirte Lösung wird durch Alkohol gefällt, der Niederschlag ist in Wasser leicht löslich. Beim Sieden der wässerigen Lösung tritt keine Coagulation ein. Das Histon gibt Biuretreaction und zwar wie das Pepton eine Rothfärbung. Bei anhaltendem Erhitzen mit Barytwasser entsteht Leucin und Tyrosin. Auffallend ist die vollkommene Fällbarkeit durch Ammoniak. Das von Lilienfeld gefundene Histon ist in seinen Eigenschaften identisch mit dem Kossel'schen, es unterscheidet sich von demselben nur dadurch, dass es beim Kochen coagulabel ist. Das in der Hitze entstandene Coagulum löst sich aber leicht in Mineralsäuren auf, «zum Unterschiede von allen anderen Eiweissstoffen». Das von Kolisch und Burian isolirte Histon zeigte in Essigsäure gelöst ebenfalls Coagulation in der Hitze. Das Coagulum löste sich auf Zusatz von Mineralsäuren wieder auf. Die in Bezug auf die Coagulation in der Hitze bestehenden Differenzen zwischen den einzelnen Angaben sind

---

[1]) Kolisch u. Burian, Ueber die Eiweisskörper d. leucämischen Harns mit besonderer Berücksichtigung des Histons. Zeitschr. für klin. Medicin. 29. S. 374.

Digitized by Google

vielleicht auf die Verschiedenheit der untersuchten Lösungen im Salz- bezw. Säuregehalt zurückzuführen; möglicher Weise aber auch sind die erhaltenen Stoffe je nach dem Ausgangsmaterial constitutionell verschieden. Als charakteristische Reactionen für das Histon sind demnach anzusehen: 1. die Fällbarkeit durch Ammoniak aus salzsaurer Lösung und Unlöslichkeit des Niederschlags in überschüssigem Ammoniak; 2. die Fällbarkeit durch starke Salpetersäure in der Kälte, dagegegen nicht in der Wärme; 3. die Coagulationsfähigkeit beim Kochen unter gewissen Verhältnissen, wobei sich jedoch das Coagulum von anderen echten Coagulationsprodukten durch seine auffallende Leichtlöslichkeit in Säuren unterscheidet. Diese drei Eigenschaften, welche als specifisch für das Histon anzusehen sind, weist das Globin in ausgesprochener Weise auf, aber auch die übrigen Eigenschaften, namentlich die Salzfällungsverhältnisse, zeigen eine ganz auffallende Uebereinstimmung. Das Globin muss danach mit dem Histon in eine Gruppe gestellt werden. Trotz weitgehender Uebereinstimmung sind jedoch Globin und das bisher beschriebene Histon nicht identisch, denn die elementare Zusammensetzung der beiden Körper weist durchgreifende Unterschiede auf. Das Globin enthält C 54,97 $^0/_0$, H 7,20 $^0/_0$, N 6,89 $^0/_0$, S 0,42 $^0/_0$. Das Histon hat nach Kossel die Zusammensetzung C 52,31 $^0/_0$, H 7,06 $^0/_0$, N 18,46 $^0/_0$ bezw. C 52,14 $^0/_0$, H 7,20 $^0/_0$. Der Schwefelgehalt wurde in diesem Präparate nicht bestimmt, sondern in einem Präparat von unbekanntem, jedoch geringem Chlorgehalt und zwar zu 0,50 $^0/_0$, also jedenfalls auch sehr gering. Lilienfeld fand für sein Histon C 52,34 $^0/_0$, H 7,31 $^0/_0$. Das Histon ist von seinem Entdecker Kossel als ein «peptonartiger» Bestandtheil des Zellkerns beschrieben worden. Der Ausdruck peptonartig ist natürlich in diesem Falle nicht in dem neueren Kühne'schen Sinne zu fassen, sondern in dem älteren weiteren Sinne, wonach man unter Peptonen auch einen Theil der Albumosen mit einbegriff. Kossel wird zu dieser Auffassung durch die Salpetersäurereaction veranlasst gewesen sein, welche das Histon mit den Albumosen gemeinsam hat. Dementsprechend führt auch Hoppe-Seyler in seinem Handbuch der chemischen

Digitized by Google

Analyse das Histon unter den in Wasser löslichen Albumosen oder, wie Hoppe-Seyler sie nennt, Propeptonen auf. Nun ist aber die Salpetersäurereaction, die Löslichkeit der Säurefällung in der Wärme, wie erwähnt, das einzige wesentliche Moment, welches das Histon mit den Albumosen gemeinsam hat; in seinen übrigen Eigenschaften steht es den echten Eiweisskörpern viel näher als den Albumosen.

Es wird sich daher empfehlen, die Histone, zu denen als besonderer Vertreter das Globin zu rechnen ist, als eine besondere Gruppe von Eiweisskörpern abzugliedern, damit der auf das Verhalten gegen Salpetersäure in der Wärme gegründete Zusammenhang mit den Albumosen nicht zu irrthümlichen Auffassungen über ihre Natur Anlass gibt.

VI. Verhalten des Globins im Thierkörper.

Ob das Globin bei der Hauptfunction des Hämoglobins, der Sauerstoffübertragung, irgendwie betheiligt ist, entzieht sich zur Zeit der Beurtheilung. Es ist nur von Interesse, dass Spitzer[1]) dem Nucleohiston aus Thymus eine oxydirende, sauerstoffübertragende Wirkung zuschreibt.

Eine andere physiologische Wirkung, die dem Histon der Leucocyten von Lilienfeld[2]) zugeschrieben wird, ist die ausgesprochene Fähigkeit, die Gerinnung zu hemmen. Lilienfeld fand, dass, wenn er Hunden Histonlösung und zwar 0,3 gr. Histon pro Kilo Thier intravenös injicirte und sofort nach der Injection Blutproben entnahm, das Blut Tage lang bis zur Zersetzung ungerinnbar blieb. Dem Globin kommt unter gleichen Bedingungen anscheinend eine gleiche Wirkung nicht zu.

Versuch I.

Ein Gramm Globin wurde in ca. 50 ccm. physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz einer möglichst geringen Menge Natriumcarbonat, welche zur Lösung nothwendig war (s. Seite 13), gelöst und einem Kaninchen von 2,4 Kilo Gewicht in die vena jugularis injicirt. Blutproben wurden aus der Carotis entnommen.

---

1) Spitzer. Die Bedeutung gewisser Nucleoproteide für die oxydative Leistung der Zelle. Pflüger's Archiv. Bd. 67, 1887, S. 615.

2) Lilienfeld, Ueber Blutgerinnung. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XX, 1895, S. 103 ff.

Digitized by Google

Normalprobe vor der Injection	9^{35}	Uhr	geronnen	nach	12′
Probe nach Inject. von 20 ccm. = 0,4 gr. Globin	9^{38}	»	»	»	8′
» » » » 50 ccm. = 1,0 » »	9^{42}	»	»	»	4′
» » » » » » » »	9^{45}	»	»	»	4′
» » » » » » » »	9^{54}	»	»	»	4′

Ein hemmender Einfluss auf die Gerinnung trat also nicht zu Tage, im Gegentheil die Normalprobe gerann etwas langsamer, wie die nach der Injection entnommenen, was aber keine Beschleunigung beweist, da man häufig beobachtet, dass die zuerst entnommenen Proben etwas langsamer gerinnen, wie die später entnommenen. Ueberhaupt liegen die gefundenen Unterschiede innerhalb der normalen bei einem Individuum vorkommenden Grenzen.

Auch bei Injection von Globin in noch grösseren Dosen war eine gerinnungshemmende Wirkung nicht zu bemerken, wie aus folgenden beiden Versuchen hervorgeht.

Versuch II.

Zur Injection wurde verwandt eine 4% Globinlösung, in gleicher Weise wie die oben beschriebene hergestellt. Kaninchen 1,5 Kilo; Injection in die vena jugularis; Proben aus der Carotis.

Normalprobe (vor der Injection) entnommen 9^{42} Uhr, geronnen nach 8′
Injection von 20 ccm. = 0,8 gr. Globin.
Probe entnommen 9^{51} » » » 4′

Nach weiterer Injection von 10 ccm. starb das Thier plötzlich. Sectionsbefund: Herz stark gefüllt, keine Thrombosen.

Versuch III.

Kaninchen 1,4 Kilo. Injection der 4% Lösung in die vena jugularis; Proben aus der Carotis.

Normalprobe (vor der Injection) entnommen 10^{12} Uhr, geronnen nach 23′
Injection von 20 ccm. = 0,8 gr. Globin.
Probe entnommen 10^{23} » » » 4′
Injection von 30 ccm. = 1,2 gr. Globin.
Probe entnommen 10^{29} » » » 7′

Dem Histon aus Hämoglobin geht sonach die gerinnungshemmende Wirkung ab; sie ist keine den histonartigen Stoffen an sich zukommende Eigenschaft. Umgekehrt drängt sich die Frage auf, ob die von Lilienfeld am Leucocytenhiston beobachtete gerinnungshemmende Wirkung nicht von einer dem-

Digitized by Google

selben anhaftenden, schwer zu beseitigenden, etwa ferment-artigen Beimengung abhängt.

Bei Versuch I und III blieb das Thier am Leben. Bei Versuch I trat kein Eiweisskörper in den Harn über. Bei Versuch III dagegen wurden geringe Mengen eines eigenthümlichen Eiweisskörpers ausgeschieden.

Versuch IV.

Kaninchen 2,9 Kilo. Injection von 50 ccm. 4% Globinlösung = 2 gr. Globin in die vena jugularis. Blutproben wurden nicht entnommen. Auch dieses Thier sonderte in den nächsten Tagen einen eiweisshaltigen Harn ab.

Die Harne in Versuch III und IV verhielten sich völlig gleich, so dass eine getrennte Beschreibung nicht erforderlich ist. Die Harne wurden klar abfiltrirt und auf Eiweiss bezw. Histon geprüft.

Mit Essigsäure und Ferrocyankalium entstand eine leichte Trübung; ebenso trat mit Salpetersäure eine Trübung auf, welche beim Kochen verschwand, beim Erkalten wiederkehrte. Beim Erhitzen des nativ sauren oder neutralen Harns entstand eine Ausscheidung, die sich auf Zusatz von Essigsäure löste.[1])

Es wurde versucht, die Histonnatur des Eiweisskörpers sicher nachzuweisen, indem der Harn mit Natronlauge alkalisch gemacht wurde, hierbei sollte das Histon sich lösen. Dann wurde von dem entstandenen Phosphatniederschlag abfiltrirt, das Filtrat wurde mit Salzsäure angesäuert und nunmehr mit Ammoniak zurückneutralisirt. Hierbei wurde jedoch keine Histonausscheidung beobachtet. Zu einer Isolirung und genauen Identificirung des Eiweisskörpers genügte die ausgeschiedene Menge nicht.

Auffallender Weise zeigte der Harn bei beiden Thieren noch nach mehreren Tagen die Reaction mit Salpetersäure. In beiden Fällen trat nach einigen Tagen (4 bezw. 5) Indican im Harn auf.

Während also geringe Mengen Globin, intravenös injicirt, vom thierischen Organismus verbraucht werden, tritt bei Einführung grösserer Gaben unverändertes Globin oder ein demselben nahestehender Körper in den Harn über.[2]) Die Möglich-

---

[1]) Auffallender Weise war von den untersuchten Harnen nur einer alkalisch. Dieser trübte sich beim Kochen nicht.

[2]) Eine endgültige Entscheidung über die Natur dieses Körpers liess sich bisher wegen der geringen Mengen, in welchen er ausge-

Digitized by Google

keit des Uebertrittes von Globin in den Harn lässt an eine Beziehung des Globins zu jener Form von Albumosurie denken, bei welcher der sogenannte Bence-Jones'sche Eiweisskörper im Harn erscheint.[1]) Vergleicht man die Eigenschaften dieses Eiweisskörpers mit jenen der Albumosen einerseits und der bekannten Histone (Globin, Histon aus Leucocyten, Histon aus Vogelblutkörperchen) andererseits, so findet man mehr Uebereinstimmung mit letzteren als mit den Verdauungsalbumosen. Ist auch die Uebereinstimmung nicht in allen Punkten gegeben, so bleibt doch zu erwägen, dass sich die Untersuchung des Bence-Jones'schen Eiweisskörpers nicht auf alle typischen Reactionen der Histone erstreckt hat — so fehlen Angaben über das Verhalten gegen Ammoniak —, dass ferner die im Harne gegebenen Verhältnisse Abweichungen in dem Ausfall der Prüfung bedingen können, wie sie auch in den obigen künstlich erzeugten Fällen von «Globinurie» wahrnehmbar waren. Da mir kein Fall von «Hemialbumosurie» zur Verfügung steht, muss ich mich begnügen, auf die Möglichkeit zu verweisen, dass es sich in solchen Fällen um Globin oder Histon der weissen Blutkörperchen handelt, und eine Entscheidung dem gelegentlichen klinischen Befunde überlassen. Die Beziehungen zwischen Knochenmark und Blutbildung lassen die genauere chemische, nicht auf die geläufigen Reactionen beschränkte Untersuchung des Bence-Jones'schen Eiweisskörpers jedenfalls als sehr wünschenswerth erscheinen.

---

schieden wurde, nicht erbringen. Jedenfalls spricht aber der Umstand, dass so geringe Mengen dieses Eiweisskörpers im Harn wiedererscheinen, gegen eine Albumosennatur des Globins, da diese vom Blute aus reichlich in den Harn übergehen.

[1]) Dieser Eiweisskörper wurde zuerst von Bence-Jones (Philosop. transact., London 1848, I) beobachtet, später von Kühne (Zeitschr. f. Biol., Bd. XIX) genauer untersucht. Die zuletzt veröffentlichte Beobachtung von Rosin (Berl. klin. Wochenschr., 1897, Nr. 48) zählt im Ganzen 6 Fälle von Bence-Jones'scher Albumosurie auf. (Hier auch vollständige Litteraturangabe). — Bei zwei kürzlich mitgetheilten Beobachtungen (Georges, ref. im chem. Centralblatt 1897, I, S. 1064, und Hugounenq, ref. im chem. Centralbl. 1897, I, S. 1216) erscheint es zweifelhaft, ob es sich um typische Bence-Jones'sche Albumosurie handelt.

Digitized by Google

Ferner muss hervorgehoben werden, dass das Auftreten eines histonartigen Körpers im Harn (Kolisch und Burian) ebensowohl auf das Globin der rothen Blutkörperchen, wie auf das Histon der weissen Blutkörperchen (resp. eine Zwischenstufe beider Formen) bezogen werden kann. Das Gleiche gilt von den im Blute gefundenen «Albumosen», soweit sie einer genügenden Charakteristik zugänglich gemacht werden können.

Von grosser Tragweite wäre es gewesen, wenn sich eine völlige Identität von Globin und Histon herausgestellt hätte. Der Schluss, dass das Hämoglobin aus dem Histon der Leucocyten durch Aufnahme der Hämatingruppe entstünde, wäre dann ein sehr naheliegender gewesen. Die grosse Verschiedenheit in der analytischen Zusammensetzung von Globin und Histon scheint diese Vermuthung zn widerlegen. Es ist aber nicht zu vergessen, dass die Verschiedenheit des Hämoglobins bestimmter Thierspecies zumeist nicht auf Verschiedenheit des Hämatins, sondern der Globincomponente beruht. Die Annahme, dass das Histon, das aus Vogelblutkörperchen und aus den Lymphocyten der Kalbsthymus dargestellt ist, mit dem Histon der Vorstufe der rothen Blutkörperchen beim Pferde identisch ist, bedarf erst der Untersuchung. Viel wahrscheinlicher ist es, dass es trotz grösster Aehnlichkeit in den Reactionen ebensogut untereinander verschiedene Histone gibt, wie Albumine oder Nucleine.

VII. Das Globin des Hunde- und Gänseblutes.

Um mich über die eventuelle Verschiedenheit des Globins bei den einzelnen Thierspecies zu unterrichten, habe ich noch Hunde- und Gänsehämoglobin untersucht.

Nach der Hoppe-Seyler'schen Methode dargestelltes, dreimal umkrystallisirtes Hundeoxyhämoglobin, in derselben Weise wie das Pferdehämoglobin verarbeitet, gab ein Globin, welches in seinen Eigenschaften so völlig mit dem Pferdeglobin übereinstimmte, dass es von demselben nicht zu unterscheiden war.

Gänsehämoglobin, ebenfalls nach der Hoppe-Seyler'schen Methode dargestellt und dreimal umkrystallisirt, lässt sich in

Digitized by Google

derselben Weise spalten, wie das Pferdehämoglobin. Auch erfolgt die Abtrennung des Farbstoffs mit derselben Leichtigkeit. In der wässerig-alkoholischen, schwach sauren Lösung erfolgt durch Neutralisiren mit Ammoniak ebenfalls eine Abscheidung. Dieser Niederschlag ist aber in verdünnten Säuren unlöslich. Beim Erhitzen mit stärkeren Säuren geht derselbe bis auf einen Rest, der als flockiger, voluminöser Niederschlag zurückbleibt, in Lösung. Auch bei der Verdauung des Gänseglobins mit Pepsinsalzsäure bleibt ein solcher flockiger Niederschlag zurück. Der Niederschlag ist in verdünntem Alkali löslich und fällt aus dieser Lösung durch Ansäuern wieder aus.

Da das Vogelbluthämoglobin einen beträchtlichen Phosphorgehalt aufweist, so ist es nicht unwahrscheinlich, dass der gegenüber dem Pferdehämoglobin bestehende Unterschied auf Anwesenheit eines nucleinartigen Körpers zurückzuführen ist. Das Globin des Gänsebluts zeigt sonach mehrfach das Verhalten eines Nucleohistons. Jedenfalls ist es von dem Globin des Hunde- und Pferdebluts wesentlich verschieden.

Strassburg, im Januar 1898.

Druck von M. DuMont-Schauberg, Strassburg.

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

LANE MEDICAL LIBRARY

To avoid fine, this book should be returned on or before the date last stamped below.

Digitized by Google

Photomount
Pamphlet
Binder
Gaylord Bros.
Makers
Stockton, Calif.
PAT. JAN. 21, 1908

94423

F91 Schulz, F.
S39 Der Eiweisskörper des
~~1898 Hämoglobins.~~

NAME	DATE DUE

Digitized by Google


Digitized by Google